

УДК 57.017.645-083.224-086.835:576.535.5
DOI: 10.15587/2519-8025.2017.93632

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА КРЫС В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ВОЗРАСТА И КАЛОРИЙНОСТИ ПИТАНИЯ

© Н. В. Колот

*Изучено влияние возраста и ограничения калорийности питания молодых и старых животных на поведение клеток костного мозга в системе *in vitro*. Установлено, что ограничение калорийности увеличивает пролиферативный потенциал клеток костного мозга старых животных. Миелограмма экспериментальных животных имеет возрастные особенности, а ограничение калорийности вызывает повышение недифференцированных бластов в костном мозге старых животных*

Ключевые слова: клетки, костный мозг, возраст, калорийность, ограничение, культивирование, пролиферация, жизнеспособность, дифференцировка, миелограмма

1. Введение

Негативное влияние факторов окружающей среды ускоряет старение организмов, снижая их продолжительность жизни. При старении нарушаются адаптационно-трофические процессы, сопровождающиеся потерей координации между клетками организма, нарушением их пролиферации и дифференцировки [1]. Костный мозг является эссенциальным органом, так как выполняет жизненно важные функции. Основным его компонентом является пул гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток [2, 3]. Возрастные изменения в костном мозге сопровождаются нарушением координации между клетками паренхимы и стромы органа; снижением скорости гемопоэза; увеличением количества и размеров адипоцитов [4–6]; возникновение дисбаланса между адипогенезом и остеобластогенезом [7]; снижением его резервных возможностей. Эти функциональные изменения способствуют уменьшению или отсутствию способности организма реагировать на стрессорные воздействия [1].

Более 80 лет проводятся экспериментальные исследования влияния ограничения калорий в рационе питания на продолжительность жизни животных [8, 9]. Но, несмотря на большое количество, проведенных исследований влияния ограничения калорий на организм позвоночных и беспозвоночных животных, мало изученным остаётся вопрос о том, как низкокалорийная диета влияет на гетерогенный клеточный пул костного мозга, особенно на поздних стадиях онтогенеза. Поэтому исследование клеток костного мозга крыс в зависимости от их возраста и калорийности питания в системе *in vitro* является актуальным.

2. Обзор литературы

В современном мире проблема увеличения продолжительности жизни актуальна. Так как с каждым годом наблюдается рост количества людей с аутоиммунными и онкологическими заболеваниями [6, 10]. Это связано с нарушением функции иммунной системы, в особенности костного мозга.

На сегодня описано большое количество моделей увеличения продолжительности жизни экспериментальных животных, к ним относят применение иммуномодуляторов или адаптогенов; использование герпротекторов и калорийно-ограниченная диета

[8]. Впервые McCay, Crowell и Maynard [9] показали, что продолжительность жизни крыс, содержащихся на калорийно-ограниченной диете, увеличивалась по сравнению с контрольными животными, получавшими питание *ad libitum*. Последующие исследования подтвердили антивозрастной эффект ограничения калорийности в рационе питания многих организмов, включая дрожжей, червей, пауков, мух, рыб, мышей, хомяков, собак и макаков [8, 11, 12]. Однако, недостаточно изученными остаются вопросы, связанные с исследованиями влияния ограничения калорий на гетерогенный пул клеток костного мозга животных на разных стадиях онтогенеза в системе *in vitro*. На основании вышесказанного в данном исследовании в ходе культивирования оценивали пролиферативный потенциал, жизнеспособность и процентное соотношение типов клеток костного мозга молодых (3-месячных) и старых (19-месячных) крыс, находящихся на разных режимах питания.

3. Цели и задачи статьи

Целью представленной работы явилось исследование пролиферативного потенциала, показателя жизнеспособности и процентного соотношения клеток костного мозга крыс в зависимости от их возраста и калорийности питания.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

1. Оценить содержание клеток в костном мозге 3-х и 19-месячных крыс, находящихся на разных режимах питания.
2. Изучить пролиферативный потенциал и показатель жизнеспособности клеток костного мозга крыс в зависимости от их возраста и калорийности питания в системе *in vitro*.
3. Исследовать влияние возраста крыс и калорийности их питания на процентное соотношение типов клеток костного мозга.

4. Материалы и методы исследования

Объектом исследования были клетки костного мозга 3-х (n=21) и 19-месячных (n=21) крыс-самцов линии *Wistar*. Животных содержали в стандартных условиях вивария, которые соответствуют «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник».

Животные были разделены на следующие группы: 1 и 2 группы – 3-х (n=7) и 19-месячные (n=7) крысы получали питание *ad libitum* (контрольные группы); 3 и 4 группы – 3-х (n=7) и 19-месячные (n=7) крысы, которых на 14 суток переводили со стандартного режима кормления на диету с ограничением калорийности (животных кормили через день при свободном доступе к воде); 5 и 6 группы – 3-х (n=7) и 19-месячные (n=7) крысы, которых на 14 суток переводили с низкокалорийной диеты на стандартный режим кормления.

Клетки костного мозга выделяли из диафизов, предварительно устранив эпифизы, бедренных и берцовых костей животных по методу [13]. Полученная суспензия содержала одиночные клетки в количестве от $2-4 \times 10^6$ клеток/мл.

Культивирование клеток проводили на протяжении 4 суток при температуре 37 °C, в атмосфере, содержащей 5 % CO₂, используя питательную среду, приготовленную на основе среды 199 с добавлением 20 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 10 мМ НЕРЕС-буфера, 2 мМ глутамина и антибиотиков (100 Ед/мл бензилпенициллина натриевой соли и 100 мкг/мл гентамицина). Оценку пролиферативной активности клеток в системе *in vitro* осуществляли каждые сутки путём подсчёта количества клеток в фиксированных полях зрения в камере Горяева. Жизнеспособность клеток в ходе культивирования определяли каждые сутки в тесте с трипановым синим. Морфологический анализ цитологических препаратов костного мозга проводили сразу после получения суспензии и на 4 сутки культивирования, используя рабочий раствор красителя Романовского-

Гимзы и светооптический микроскоп.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программ “Excel” и “Statistica 7.0” для WinXP. Статистическую достоверность различий между двумя группами данных оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Данные представлены как средние значения, полученные в 3 аналогичных экспериментах и измеренные в 3 параллельных пробах, ± стандартная ошибка; достоверными считались отличия при $p < 0,05$.

5. Результаты исследования и их обсуждение

Данные по содержанию клеток костного мозга и их жизнеспособности на момент получения суспензии представлены в таблице 1. Установлено, что у 3-месячных крыс контрольной группы количество клеток в костном мозге на 27 % было ниже относительно значений, полученных для 19-месячных крыс. Низкокалорийная диета независимо от возраста крыс индуцирует снижение количества клеток в костном мозге на 36 % и 32 %, соответственно. При переводе молодых и старых животных на стандартный режим питания достоверных отличий по количеству клеток относительно контрольных значений не было обнаружено. Показатель жизнеспособности клеток костного мозга на момент получения суспензии был высоким независимо от возраста и калорийности питания (табл. 1). Это свидетельствует о том, что метод [13] выделения клеток из костного мозга животных является эффективным, так как позволяет получить суспензию с высоким показателем жизнеспособности.

Таблица 1

Средние значения количества клеток костного мозга из одной бедренной кости и показателя их жизнеспособности

| Группы животных | Количество клеток костного мозга $\times 10^6$ /мл | Жизнеспособность, % | |
|-----------------|--|---------------------|---------------------------|
| | | момент получения | 4-е сутки культивирования |
| 1 | $2,2 \pm 0,4$ | $98 \pm 0,5$ | $97 \pm 1,6$ |
| 2 | $2,8 \pm 0,4$ | $98 \pm 0,6$ | $98 \pm 0,3$ |
| 3 | $1,4 \pm 0,5^*$ | $96 \pm 1,1$ | $95 \pm 1,0$ |
| 4 | $1,9 \pm 0,5^*$ | $99 \pm 0,7$ | $99 \pm 1,0$ |
| 5 | $2,0 \pm 0,2$ | $97 \pm 0,8$ | $95 \pm 1,2$ |
| 6 | $2,4 \pm 0,1$ | $98 \pm 0,3$ | $96 \pm 0,8$ |

Примечание: * – отличия достоверны относительно контрольных групп 3-х и 19-месячных крыс, $p < 0,05$

Морфологически популяция клеток костного мозга крыс разного возраста независимо от условий питания была гетерогенной (табл. 2). Достоверно значимых отличий не было обнаружено при анализе миелограмм молодых и старых животных контрольной группы, исключение составило лишь наличие недифференцированных бластов у молодых животных. Одной из причин старения является снижение количества или отсутствие в костном мозге недифференцированных или малодифференцированных клеток-предшественников иммунной системы и увеличение зрелых, терминально дифференцированных иммунокомпетентных клеток. Кроме того, в ходе старения организма происходит снижение функциональной способности иммунокомпетентных клеток, что в целом оказывает негативное влияние на им-

мунную систему и вызывает развитие возрастных заболеваний [14].

Ограничение калорийности или голодание является для организма биологическим стрессом, особенно на стадии активного роста животных [1]. Полученные данные показали, что низкокалорийная диета вызывает временное снижение клеток эритроидного ряда у 3-месячных крыс (табл. 2). Это связано с развитием гипорегенераторной нормоцитарной анемии, которая характеризуется временным угнетением эритропоэза из-за дефицита в организме при низкокалорийной диете факторов кроветворения (витаминов группы В, белков) [15]. Переведение молодых крыс на стандартный режим питания способствует восстановлению количества клеток эритроидного ряда в их костном мозге.

У 3-месячных крыс ограничение калорийности питания способствует увеличению дифференцированных клеток, таких как палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, лимфоциты. В работе

[16] показано, что ограничение калорий на ранних этапах онтогенеза животных подавляет лимфопоэз и увеличивает созревание, дифференцировку всех видов лимфоцитов.

Таблица 2

Миелограмма экспериментальных групп животных на момент получения клеточной суспензии

| Клеточные элементы | Процентное соотношение клеток костного мозга, % | | | | | |
|-----------------------------|---|----------|-----------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Недифференцированные бласты | 2,2±1,0 | 0,0±0,0 | 1,0±0,0 | 3,0±1,0* | 2,0±1,0 | 2,0±0,2* |
| Эритробласты | 2,0±1,1 | 1,0±0,1 | 1,0±0,1 | 1,0±0,1 | 3,0±1,1 | 1,0±0,1 |
| Пронормобласты | 1,1±0,2 | 1,0±0,2 | 1,0±0,2 | 1,0±0,1 | 1,0±0,3 | 1,0±0,2 |
| Нормобласты | | | | | | |
| базофильные | 4,0±0,5 | 3,0±0,7 | 0,5±0,0* | 4,0±0,5 | 5,0±0,5 | 3,0±0,7 |
| полихроматофильные | 10,0±1,1 | 9,0±1,8 | 2,0±0,1* | 9,0±1,1 | 8,0±1,1 | 10,0±2,4 |
| оксифильные | 4,0±0,2 | 2,0±0,1 | 0,5±0,3* | 2,0±2,2 | 4,0±0,2 | 3,0±0,3 |
| Миелобласты | 2,0±0,8 | 1,0±0,4 | 2,0±1,1 | 2,0±0,2 | 2,0±0,2 | 2,0±0,7 |
| Промиелоциты | 1,0±0,4 | 2,0±0,7 | 2,0±0,5 | 1,3±0,4 | 1,3±0,4 | 1,0±1,7 |
| Миелоциты | 7,0±2,1 | 5,0±0,1 | 7,0±0,3 | 5,0±1,1 | 7,0±1,1 | 6,0±0,3 |
| Метамиелоциты | 9,0±1,2 | 10,0±0,7 | 8,0±1,3 | 10,0±0,2 | 8,0±0,2 | 9,0±2,8 |
| Палочкоядерные нейтрофилы | 19,0±0,3 | 22,0±1,3 | 23,0±1,1* | 19,0±0,3 | 19±0,3 | 20,0±2,3 |
| Сегментоядерные нейтрофилы | 11,0±0,4 | 15,0±2,8 | 18,0±0,8* | 17,0±2,4 | 14,0±0,4 | 18,0±1,4 |
| Эозинофильные гранулоциты | 1,0±0,3 | 1,0±0,5 | 0,0±0,0 | 1,0±0,3 | 1,0±0,3 | 0,5±0,3 |
| Моноциты | 0,7±0,2 | 1,0±0,6 | 1,0±0,1 | 0,8±0,1 | 0,8±0,1 | 1,0±0,2 |
| Лимфобласты | 3,0±1,2 | 2,0±0,5 | 1,3±0,5 | 3,4±1,2 | 3,5±1,2 | 2,0±0,9 |
| Пролимфоциты | 1,0±0,3 | 1,0±0,5 | 1,0±0,1 | 1,0±0,3 | 1,0±0,3 | 0,5±0,1 |
| Лимфоциты | 20,0±2,2 | 22,0±1,2 | 30,0±0,3* | 18,0±0,2 | 18,0±0,2 | 19,0±2,2 |
| Плазмоциты | 1,5±0,1 | 1,0±0,2 | 0,0±0,0 | 1,0±0,1 | 1,0±0,1 | 0,5±0,5 |
| Мегакариоциты | 0,5±0,2 | 1,0±0,3 | 0,7±0,3 | 0,5±0,2 | 0,4±0,2 | 0,5±0,1 |

Примечание: * – отличия достоверны относительно контрольных групп 3-х и 19-месячных крыс, $p < 0,05$.

Полученные данные показали, что низкокалорийная диета вызывает в костном мозге старых крыс увеличение доли недифференцированных бластов (табл. 2). Доказано, что одним из антивозрастных влияний ограничения калорий на организм является индукция аутофагии, которая позволяет клеткам не только избавиться от повреждённых белков, деструктурированных органелл, токсинов и переработанных в ходе её метаболизма клеточных компонентов, но и обновить свои внутриклеточные компоненты [17]. Можно предположить, что переводение старых животных на низкокалорийную диету способствует активации аутофагии в клетках костного мозга, которая стимулирует недифференцированные клетки к самообновлению и дифференцировке за счет обновления их внутриклеточных структур. Переведение крыс обоих возрастов на стандартный режим питания не вызывает изменений в процентном соотношении морфотипов клеток в костном мозге (табл. 2).

Исходной концентрацией для культивирования клеток костного мозга была $2,0\text{--}2,3 \cdot 10^6/\text{мл}$. Пролиферативная активность клеток костного мозга молодых животных представлена на рис. 1, а. В культурах клеток молодых крыс контрольной группы наблюдалось постепенное увеличение пролиферативного потенциала, и на 4 сутки культивирования количество клеток в 2 раза превыша-

ло исходные значения (рис. 1, а, кривая 1). Переведение молодых животных на питание с ограничение калорий и последующий откорм оказывали негативное влияние на пролиферативный потенциал клеток костного мозга (рис. 1, а, кривая 3, 5). Так, в первичных клеточных культурах от молодых животных, находящихся на низкокалорийной диете и откорме, не обнаружено прироста клеток, и на 4 сутки культивирования их количество было в 1,2 раза ниже по сравнению с исходными значениями (рис. 1, а, кривая 3, 5). Это является показателем снижения пролиферативного потенциала гемопоетических клеток в культурах вышеперечисленных групп животных.

Пролиферативная активность клеток костного мозга старых контрольных животных была низкой в ходе всего культивирования (рис. 2, б, кривая 2). Отсутствие роста клеток в первичной культуре отражает то, что клетки старых животных пребывают в состоянии покоя в условиях *in vitro*. Низкокалорийная диета способствовала повышению пролиферативного потенциала клеток костного мозга старых животных в системе *in vitro* (рис. 1, б, кривая 4). На 4-е сутки в первичных культурах количество клеток костного мозга старых животных, содержащихся на низкокалорийной диете, в 2 раза превышало исходные значения. Переведение 19-месячных крыс на стандартный режим кормления

не оказывало положительного влияния на пролиферацию клеток костного мозга. При этом в первичных культурах прироста клеток не было обнаружено, и их количество достоверно не отличалось от контрольных значений (рис. 1, б, кривая 6).

В ходе культивирования показатель жизнеспособности клеток костного мозга всех групп животных независимо от возраста и калорийности питания оставался высоким (табл. 1).

В первичных культурах клеток независимо от возраста и режима питания животных на 4 сутки культивирования отсутствовали клетки эритроидного и мегакариоцитарного ростков. Это отображает большую чувствительность клеток эритроидного и мегакариоцитарного ростков к отсутствию ростовых факторов, т. е. зависит от условий культивирования.

В первичных культурах клеток молодых контрольных и старых, содержащихся на низкокалорийной диете, крыс возрастало число недифференцированных бластов, а также бластных клеток гранулоцитарного и лимфоидного ростков (табл. 3). Наличие недифференцированных клеток в культурах вышеуказанных групп животных подтверждает их высокую пролиферативную активность. Морфологический анализ показал, что в культурах клеток с низким пролиферативным потенциалом преобладали дифференцированные клетки (палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, лимфоциты). Поведение непродифференцированных дифференцированных клеток в культуре может быть двоякой. Они могут подвергаться деградации или сохраняться неизменными в культуре в течение нескольких суток.

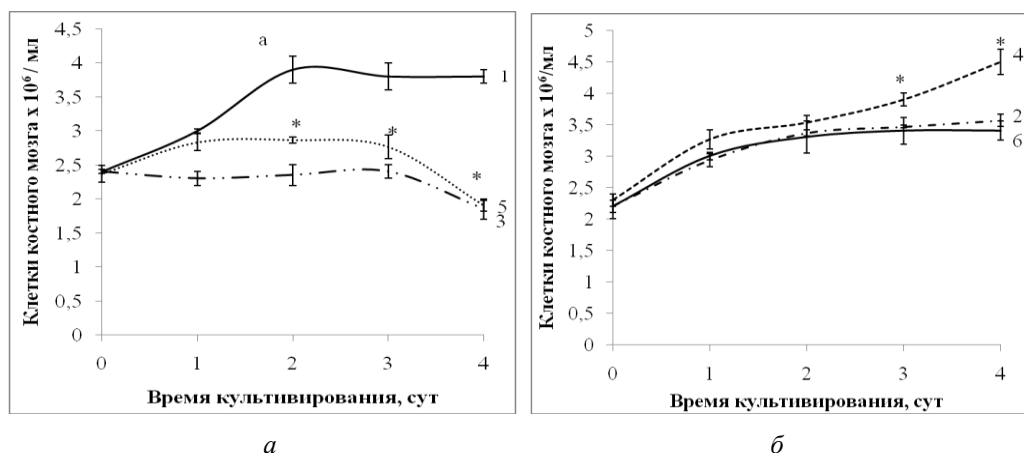


Рис. 1. Изменение количества клеток костного мозга в первичной культуре: а – молодых животных; б – старых животных; * – отличия достоверны относительно контрольных групп 3-х и 19-месячных крыс, $p < 0,05$. Цифрами обозначены группы животных (см. Материалы и методы исследования)

Таблица 3

Процентное соотношение клеток костного мозга экспериментальных групп животных на 4-е сутки культивирования

| Клеточные элементы | Процентное соотношение клеток костного мозга, % | | | | | |
|-----------------------------|---|----------|----------|-----------|-----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Недифференцированные бласты | 5,0±1,0 | 0,0±0,0 | 0,0±0,0 | 8,0±0,3* | 0,0±0,0 | 0,0±0,0 |
| Миелобласты | 1,0±0,4 | 0,0±0,0 | 0,0±0,0 | 2,0±0,5* | 2,0±0,5 | 1,0±0,1* |
| Промиелоциты | 1,0±0,3 | 0,0±0,0 | 1,0±1,2 | 2,0±1,2* | 2,0±0,7 | 1,0±0,5* |
| Миелоциты | 3,0±0,1 | 5,0±3,1 | 1,0±1,0 | 4,0±0,8 | 1,0±0,0 | 2,0±1,1 |
| Метамиелоциты | 10,0±2,4 | 6,0±0,4 | 4,0±1,1 | 9,0±2,1* | 8,0±2,2 | 6,0±3,2 |
| Палочкоядерные нейтрофилы | 16,0±0,2 | 23,0±2,2 | 24,0±3,7 | 16,0±0,7* | 25,0±2,3* | 21,0±2,5 |
| Сегментоядерные нейтрофилы | 20,0±1,4 | 26,0±1,4 | 26,0±0,9 | 19,0±0,7* | 25,0±1,1* | 24,0±2,1 |
| Лимфобласты | 12,0±0,3 | 4,0±0,5 | 6,0±1,1 | 7,0±1,7* | 4,0±0,3 | 4,0±0,3 |
| Пролимфоциты | 10,0±0,2 | 5,0±2,2 | 7,0±2,0 | 8,0±0,0 | 9,0±1,2 | 8,0±2,4 |
| Лимфоциты | 22,0±1,2 | 31,0±1,2 | 31,0±4,5 | 25,0±1,5* | 32,0±4,2* | 33,0±0,2 |

Примечание: * – отличия достоверны относительно контрольной группы животных, $p < 0,01$

На основании полученных данных, можно предположить, что низкокалорийная диета способствует восстановлению или активации пролиферативного потенциала клеток костного мозга старых крыс в системе *in vitro*.

6. Выводы

Таким образом, содержание клеток в костном мозге крыс зависит от возраста и ограничения пита-

ния. Увеличение возраста крыс способствует увеличению количества клеток в костном мозге. Переведение крыс на низкокалорийную диету приводит к снижению содержания клеток в костном мозге независимо от их возраста. Пролиферативный потенциал костномозговых клеток отличался у молодых и старых животных в системе *in vitro*. С увеличением возраста животных пролиферативный потенциал клеток костного мозга снижается. Ограничение ка-

лорийности питания с одной стороны, стимулирует пролиферацию клеток старых крыс, а с другой, подавляет пролиферативную активность клеток молодых крыс. При этом показатель жизнеспособности клеток костного мозга не зависит от возраста и калорийности питания крыс и остается высоким в ходе всего культивирования. Морфологически популяция клеток костного мозга крыс независимо от возраста и условий питания была гетерогенной. Однако культивирование снижает гетерогенность клеток. При этом в первичных культурах с низкой пролиферативной активностью в основном присутствуют терми-

нально дифференцированные клетки гранулоцитарного и лимфоидного ростков. А в первичных культурах с высокой пролиферативной активностью были обнаружены недифференцированные бласты и предшественники клеток крови. Переведение крыс на низкокалорийную диету оказывает положительное влияние на пролиферацию клеток только на поздних стадиях онтогенеза. Однако для определения механизмов влияния ограничения калорийности на пул недифференцированных предшественников клеток иммунной системы необходимы дополнительные исследования.

Литература

1. Анисимов, В. Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения. Т. 1 [Текст] / В. Н. Анисимов. – СПб.: Наука, 2008. – 481 с.
2. Николаева, Л. П. Особенности миелограммы костного мозга трубчатых костей [Электронный ресурс] / Л. П. Николаева, Д. В. Черданцев, Н. С. Хват // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. – Режим доступа: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=21082>
3. Gurcan, U. A. The Mechanical Environment of Bone Marrow: A Review [Text] / U. A. Gurcan, O. Akkus // Annals of Biomedical Engineering. – 2008. – Vol. 36, Issue 12. – P. 1978–1991. doi: 10.1007/s10439-008-9577-x
4. Duque, G. Bone and fat connection in aging bone [Text] / G. Duque // Current Opinion in Rheumatology. – 2008. – Vol. 20, Issue 4. – P. 429–434. doi: 10.1097/bor.0b013e3283025e9c
5. Justesen, J. Adipocyte tissue volume in bone marrow is increased with aging and in patients with osteoporosis [Text] / J. Justesen, K. Stenderup, E. N. Ebbesen, L. Mosekilde, T. Steiniche, M. Kassem // Biogerontology. – 2001. – Vol. 2, Issue 3. – P. 165–171. doi: 10.1023/a:1011513223894
6. Maciel, B. B. Morphology and morphometry of feline bone marrow-derived mesenchymal stem cells in culture [Text] / B. B. Maciel, C. L. K. Rebelatto, P. R. S. Brofman, H. F. V. Brito, L. F. L. Patricio, M. A. Cruz, R. Locatelli-Dittrich // Pesquisa Veterinaria Brasileira. – 2014. – Vol. 34, Issue 11. – P. 1127–1134. doi: 10.1590/s0100-736x2014001100016
7. Bethel, M. The changing balance between osteoblastogenesis and adipogenesis in aging and its impact on hematopoiesis [Text] / M. Bethel, B. Chitteti, E. F. Srouf, M. A. Kacena // Current Osteoporosis Reports. – 2013. – Vol. 11, Issue 2. – P. 99–106. doi: 10.1007/s11914-013-0135-6
8. Божков, А. И. Низкокалорийная диета как модель увеличения продолжительности жизни и исследования механизмов старения [Текст] / А. И. Божков // Успехи геронтологии. – 2001. – № 8. – С. 89–99.
9. McCay, C. M. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size [Text] / C. M. McCay, M. F. Crowell, L. A. Maynard // Journal of Nutrition. – 1935. – Vol. 10, Issue 1. – P. 63–79.
10. DelaRosa, O. Immunological biomarkers of ageing in man: changes in both innate and adaptive immunity are associated with health and longevity [Text] / O. DelaRosa, G. Pawelec, E. Paralbo, A. Wikby, E. Mariani, E. Mocchegiani et. al. // Biogerontology. – 2006. – Vol. 7, Issue 5-6. – P. 471–481. doi: 10.1007/s10522-006-9062-6
11. Vitousek, K. L. Caloric restriction for longevity: I. Paradigm, Protocols and Physiological Findings in Animal Research [Text] / K. L. Vitousek, J. A. Gray, K. M. Grubbs // European Eating Disorders Review. – 2004. – Vol. 12, Issue 5. – P. 279–299. doi: 10.1002/erv.594
12. Ramsey, J. J. Dietary restriction and aging in rhesus monkeys: The University of Wisconsin study [Text] / J. J. Ramsey, R. J. Colman, N. C. Binkley, J. D. Christensen, T. A. Gresl, J. W. Kemnitz, R. Weindruch // Experimental Gerontology. – 2000. – Vol. 35, Issue 9-10. – P. 1131–1149. doi: 10.1016/s0531-5565(00)00166-2
13. Javazon, E. H. Rat marrow stromal cells are more sensitive to plating density and expand more rapidly from single-cell-derived colonies than human marrow stromal cells [Text] / E. H. Javazon, D. C. Colter, E. J. Schwarz, D. J. Prockop // Stem Cells. – 2001. – Vol. 19, Issue 3. – P. 219–225. doi: 10.1634/stemcells.19-3-219
14. White, M. J. Calorie restriction attenuates terminal differentiation of immune cells [Text] / M. J. White, C. M. Beaver, M. R. Goodier, C. Bottomley, C. Nielsen, A.-S. F. M. Wolf et. al. // Frontiers in Immunology. – 2017. – Vol. 7. – P. 667. doi: 10.3389/fimmu.2016.00667
15. Чеснокова, Н. П. Анемии: классификация, общая характеристика гематологических сдвигов. Постгеморрагические анемии [Текст] / Н. П. Чеснокова, Т. А. Невважай, В. В. Моррисон, Н. Н. Бизенкова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2015. – № 6-1. – С. 152–155.
16. Shushimita, S. Dietary restriction and fasting arrest B and T cell development and increase mature B and T cell numbers in bone marrow [Text] / S. Shushimita, M. J. W. de Bruijn, R. W. F. de Bruin, J. N. M. IJzermans, R. W. Hendriks, F. J. M. F. Dor // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, Issue 2. – P. e87772. doi: 10.1371/journal.pone.0087772
17. Madeo, F. Essential role for autophagy in life span extension [Text] / F. Madeo, A. Zimmermann, M. C. Maiuri, G. Kroemer // The Journal of Clinical Investigation. – 2015. – Vol. 125, Issue 1. – P. 85–93. doi: 10.1172/jci73946

*Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Божок Г. А.
Дата надходження рукопису 25.01.2017*

Колот Наталья Владимировна, кандидат биологических наук, доцент, кафедра генетики и цитологии, Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина, пл. Свободы, 4, г. Харьков, Украина, 61022
E-mail: natakolot@mail.ru